

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：33919

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17937

研究課題名（和文）レドックス制御機構を介した肥満・糖尿病に対する効果的な運動の探索

研究課題名（英文）Exploration of the effective exercise for obesity/diabetes via the redox regulation system

研究代表者

都築 孝允 (Tsuzuki, Takamasa)

名城大学・薬学部・助教

研究者番号：20780068

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、運動による肥満/糖尿病の改善効果におけるレドックス制御機構の役割を明らかにし、これらの疾患に対する効果的な運動を提案することであった。レドックス制御機構の主要な転写因子であるNrf2の欠損は、骨格筋および肝臓のインスリン感受性を低下させることが明らかとなった。加えて、運動トレーニングとNrf2活性化剤の併用は、肥満およびインスリン抵抗性の改善に効果的な手段の一つとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動は肥満や糖尿病といった代謝疾患の改善に効果的であることが明らかにされてきたが、これらの疾患を改善するメカニズムについては不明な点が多いため。本研究では、運動が肥満/糖尿病を改善するメカニズムをレドックス制御機構の観点から検討し、主要な転写因子であるNrf2はインスリン感受性に影響を与えることを見出した。加えて、Nrf2活性化剤と運動の併用はインスリン抵抗性の改善に効果的であったことから、肥満/糖尿病などの代謝疾患に対する効果的・効率的な運動プログラムの開発の一助となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to examine the role of redox regulation system in improvement of obesity and diabetes by exercise, and to propose the effective exercise for these diseases. We observed that the deficiency of Nrf2, a major transcription factor of redox regulation, impaired insulin sensitivity in skeletal muscle and liver. In addition, our research suggested that combination of exercise training and Nrf2 activator may be one of effective methods for improving in obesity and insulin resistance.

研究分野：運動生理学

キーワード：運動 肥満 糖尿病 インスリン抵抗性 レドックス制御機構 Nrf2 抗酸化物質

## 1. 研究開始当初の背景

肥満や糖尿病といったインスリン抵抗性を主徴とする疾患は、慢性的な軽度の炎症や酸化ストレスの亢進と関連しており、近年では酸化還元反応（レドックス）のバランスの不均衡が発症要因の一つとして認識されてきた。一方、運動はこれらの代謝疾患の予防・改善に効果的であることが明らかにされてきたが、その分子メカニズムは不明な点が多く残されている。

一過性の運動時には活性酸素種（ROS）の産生が増加し酸化ストレスを亢進させるが、長期的な運動トレーニングにより抗酸化能力が向上することが明らかにされている。このメカニズムの一端を担う分子として注目されているのが、Nuclear erythroid 2 p45-related factor 2（Nrf2）である。Nrf2 は酸化ストレスなどに曝されると細胞質から核内に移行し、抗酸化タンパク質の遺伝子発現を増加させ、抗酸化能力の獲得または向上に貢献していると考えられている。つまり、運動による ROS 産生の増加は、Nrf2 を介した抗酸化適応を引き起こすために重要である可能性が考えられる。我々は、これまでに正常マウスの骨格筋において、ROS 発生源の一部を薬理的に阻害することで、運動による ROS の増加が抑制され、Nrf2 遺伝子発現の増加も抑制されることを明らかにし、運動による Nrf2 の活性化に関する基礎知見を得てきた。

しかしながら、運動による肥満・糖尿病の改善に対して Nrf2 を介したレドックス制御機構がどのような役割を担っているのかは明らかではない。加えて、近年 Nrf2 の活性化作用を有する生理活性物質が多く報告されているが、運動と Nrf2 活性化剤の併用が肥満・糖尿病の改善に効果的であるか否かについては不明である。

## 2. 研究の目的

本研究では、運動による肥満・糖尿病の改善効果におけるレドックス制御機構の役割を明らかにするために、以下の2つのテーマについて検証した。

### (1) Nrf2 が骨格筋および肝臓のインスリン感受性に与える影響

インスリン抵抗性の発症の要因にレドックス制御機構が関わっていることが考えられているが、レドックス制御機構の主要な因子である Nrf2 の関与については必ずしも明らかではない。そこで、Nrf2 遺伝子欠損マウスを用いて、Nrf2 の欠損が糖代謝に関連する臓器（骨格筋・肝臓）におけるインスリン感受性に与える影響を明らかにすることを目的とした。

### (2) Nrf2 活性化剤と運動トレーニングの併用がインスリン抵抗性の改善に与える影響

我々は、これまでに運動による Nrf2 活性化に関する基礎知見を得てきた。加えて、近年では Nrf2 の活性化作用を有する生理活性物質が多く報告されている。そこで、運動と Nrf2 活性化剤の併用が肥満/糖尿病を改善する効果的手段となり得るのかを検証するため、食事誘導性肥満マウスを用いて、Nrf2 の活性化作用が報告されているケルセチンの投与と運動トレーニングの併用が肥満およびインスリン抵抗性の改善に与える影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) Nrf2 が骨格筋および肝臓のインスリン感受性に与える影響

24 週齢の野生型（WT）および Nrf2 遺伝子欠損マウス（KO）を用いて、門脈よりインスリン（0.5 U/kg）または生理食塩水を注入し、5 分後に腓腹筋および肝臓を摘出した。各臓器からタンパク質を抽出し、ウェスタンブロット法により、インスリンシグナルの主要なタンパク質である Akt のリン酸化率を分析した。

### (2) Nrf2 活性化剤と運動トレーニングの併用がインスリン抵抗性の改善に与える影響

8 週齢の雄性 C57BL/6J マウスに高脂肪食（60%Fat/kcal）を 10 週間与え、肥満を惹起した。18 週齢時に、コントロール（Con）群、運動トレーニング（Ex）群、ケルセチン投与（Que）群および、運動トレーニング+ケルセチン投与（ExQ）群に無作為に分類した。持久的トレーニングとして、動物用トレッドミルを用いた走運動（12~15 m/min、60 min/day、傾斜 10°）を週 5 日、8 週間実施した。ケルセチン（50 mg/kg）は毎回、運動開始 30 分前に経口投与した。トレーニング後にインスリン負荷試験（ip）を行い、インスリン抵抗性を評価した。

#### 4. 研究成果

##### (1) Nrf2 が骨格筋および肝臓のインスリン感受性に与える影響

腓腹筋および肝臓において、インスリンシグナル伝達系の主要なタンパク質である Akt のリン酸化率を評価したところ、Akt のリン酸化部位である Ser473 および Thr308 のいずれにおいても、Nrf2KO マウスのリン酸化率は、WT マウスと比較して 20%程度、有意に低値を示した。したがって、Nrf2 はインスリン感受性の調節に関与していることが明らかとなった。しかしながら、この関与が直接的なものか、間接的なものかは不明なままであるため、さらなる研究が必要である。

##### (2) Nrf2 活性化剤と持久的トレーニングの併用がインスリン抵抗性の改善に与える影響

8 週間の持久的トレーニングとケルセチン投与の介入を実施したところ、ExQ 群の体重は Sed 群および Que 群と比較して、有意に低値を示した。Ex 群においても体重減少の傾向にあったが統計的に有意ではなかった。

また、介入後に腹腔内インスリン負荷試験を実施し、インスリン投与前の血糖値を 100%とした相対値で経時変化を示したところ、インスリン投与 30 分および 60 分後において、ExQ 群の血糖値の割合は、Sed 群と比較して有意に低値を示した。また、インスリン投与 60 分後において、Que 群よりも ExQ 群の血糖値は有意に低かった。したがって、運動トレーニングとケルセチン投与の併用は、体重減少およびインスリン抵抗性の改善において効果的であった。

今後は、運動と Nrf2 活性化剤の併用効果における分子メカニズムを明らかにするとともに、より効果の高い組み合わせを追求していく必要がある。

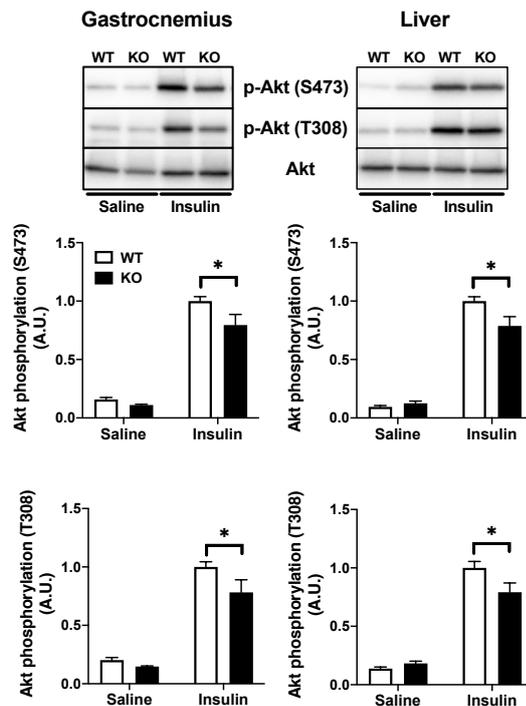


図1. インスリン刺激によるAktリン酸化率の変化

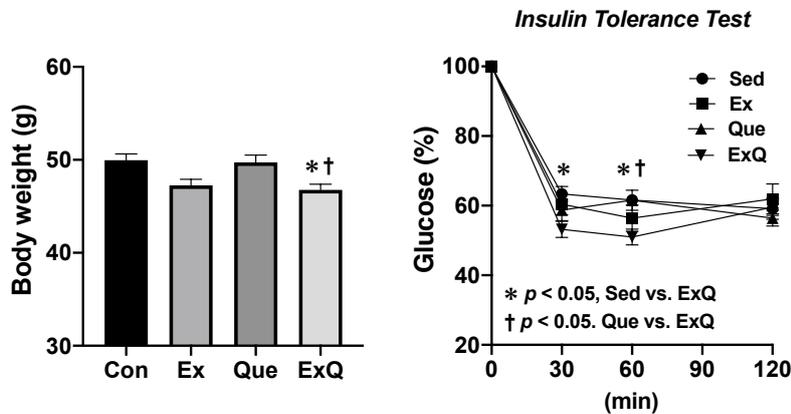


図2. 運動とケルセチンの併用による体重およびインスリン抵抗性の変化

以上の結果から、レドックス制御機構の主要な分子である Nrf2 は、インスリン抵抗性の改善のための分子標的となり得ると考えられ、さらに Nrf2 活性化剤と運動の併用はインスリン抵抗性を効果的に改善させる手段の一つとなる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 都築孝允、後藤亜由美、吉原利典、月岡恵惟、内藤久士
2. 発表標題 肥満マウスにおけるキサンチンオキシダーゼの阻害は一過性運動による骨格筋の糖代謝関連シグナル伝達に影響を与えない
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 都築孝允、吉原利典、根岸隆之、湯川和典、内藤久士
2. 発表標題 キサンチンオキシダーゼの阻害が一過性運動後における骨格筋の細胞内シグナル伝達系に与える影響
3. 学会等名 第65回日本薬学会東海支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 玉城亜寿香、都築孝允、岩脇茉柚、中井夏水、村井克行、佐々木翔斗、根岸隆之、湯川和典
2. 発表標題 持久的トレーニングとビタミンC投与の併用が肥満マウスの耐糖能に与える影響
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	内藤 久士  (Naito Hisashi)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	後藤 佐多良  (Goto Sataro)		
研究協力者	吉原 利典  (Yoshihara Toshinori)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関